

UNIVERSITÉ DE GENÈVE

Clinique et policlinique de
dermatologie et de vénéréologie

FACULTÉ DE MÉDECINE

(Directeur: Prof. W. Jadassohn)

De l'eczéma expérimental

La sensibilisation du cobaye au dinitrochlorobenzène
et au chlorure de picryle

THÈSE

présentée à la Faculté de Médecine de l'Université de Genève
pour obtenir le grade de Docteur en Médecine

par

Alain DE WECK

de Pierrafortscha (Fribourg)

Thèse No 2389

1956

ÉDITIONS S. KARGER
BÂLE

UNIVERSITÉ DE GENÈVE

Clinique et policlinique de
dermatologie et de vénéréologie

FACULTÉ DE MÉDECINE

(Directeur: Prof. W. Jadassohn)

De l'eczéma expérimental

La sensibilisation du cobaye au dinitrochlorobenzène
et au chlorure de picryle

THÈSE

présentée à la Faculté de Médecine de l'Université de Genève
pour obtenir le grade de Docteur en Médecine

par

Alain DE WECK

de Pierrafortscha (Fribourg)

Thèse No 2389



1956

ÉDITIONS S. KARGER
BÂLE

La Faculté de médecine, sur le préavis de Monsieur le Professeur *W. Jadassohn*, autorise l'impression de la présente thèse sans prétendre par là émettre d'opinion sur les propositions qui y sont énoncées.

Genève, le 25 juin 1956.

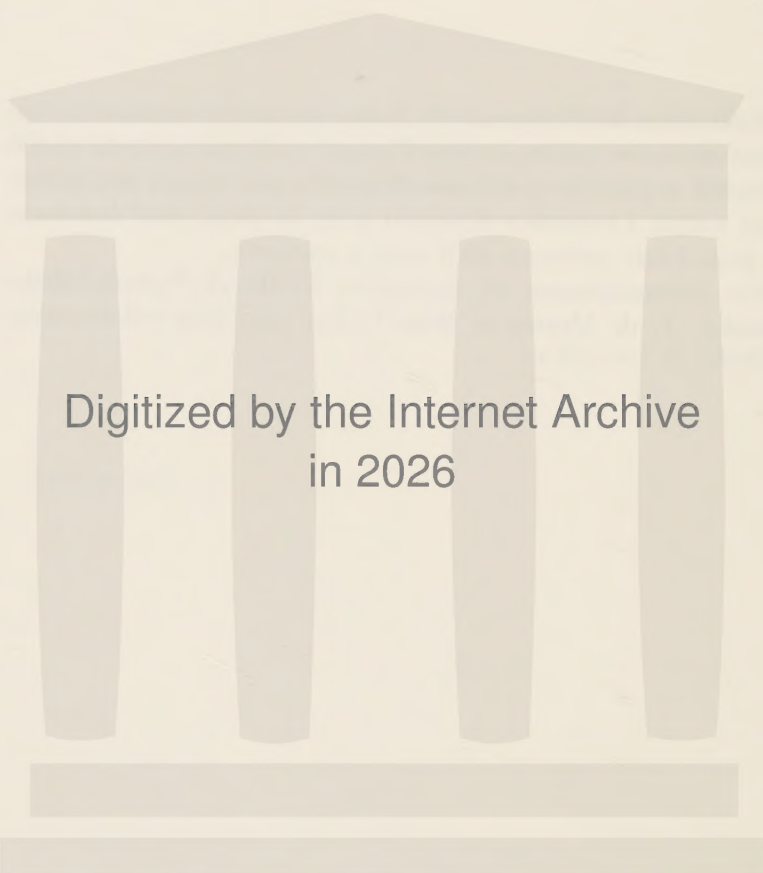
Le Doyen: *F. Chatillon*

Thèse N° 2389

Que Monsieur le Professeur *W. Jadassohn* veuille trouver ici l'expression de notre gratitude pour l'intérêt qu'il n'a cessé de porter à ce travail et pour les judicieuses directives qu'il nous a prodiguées.

Nous tenons à remercier vivement le Dr *R. Brun*, chef de laboratoire, pour l'aide précieuse qu'il nous a apportée.

Notre reconnaissance va également à Mr *A. Vetterli*, Melles *P. Gaudin*, *Y. de Meuron* et Mme *V. Rey* pour leur collaboration.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546406_0031

De nombreux chercheurs se sont attaqués au vaste problème de l'eczéma en se servant de l'expérimentation sur l'animal.

Le répertoire des substances susceptibles de créer chez l'animal et plus particulièrement le cobaye une sensibilisation de contact et d'évoquer chez les animaux sensibilisés des réactions épicutanées tardives a considérablement augmenté avec les années. Nous pouvons compter entre autres: extrait de primevère, primine (Bloch, Steiner-Wourlich^{3, 4}, 1930) – Phénylhydrazine (W. Jadassohn³⁶, 1930) – Paraphénylènediamine (R. L. Mayer⁵⁴, 1931) – Rhus toxicodendron (poison ivy) (F. A. Simon⁷⁰, 1934) – Dérivés nitrés du benzène, parmi lesquels 1-2-4 dinitrochlorobenzène, 1-2-4-6-chlorotrinitrobenzène (chlorure de picryle) (K. Landsteiner, J. Jacobs⁴⁴, 1935) – Paranitrosodiméthylaniline (K. Landsteiner, J. Jacobs⁴⁴, 1935) – Pinène (W. Burckhardt⁵, 1938).

Si certaines substances telles que le Rhus toxicodendron et la paraphénylènediamine ont continué à faire l'objet de recherches expérimentales, c'est néanmoins le 1-2-4 dinitrochlorobenzène (DNCB) qui, depuis la démonstration de son action sensibilisante sur le cobaye (Landsteiner, Jacobs⁴⁴) et sur l'homme (Wedroff et Dolgoff⁷⁶, Sulzberger et Baer⁷⁵, Haxthausen^{29, 30}) a été choisi par la plupart des chercheurs travaillant au problème de l'eczéma expérimental. Le chlorure de picryle (PCL), qui a été utilisé surtout par

Landsteiner et Chase a été à l'origine de travaux très importants sur les modalités et la pathogenèse de la sensibilisation cutanée de contact.

De nombreux auteurs se sont dès lors attaqués au problème de l'eczéma de contact et ont tenté, par la voie de l'eczéma expérimental du cobaye, de mieux comprendre sa nature et les divers facteurs qui le déterminent. Ainsi ont paru au cours des années un grand nombre de publications concernant notamment le transfert passif de la sensibilité de contact, le mode de généralisation de la sensibilisation, le rôle du système nerveux, du système réticulo-endothélial et particulièrement du système lymphatique dans la pathogenèse de l'eczéma. En outre, de très nombreux facteurs tant physiques que chimiques ou biologiques pouvant influencer la réaction eczémateuse ont été étudiés.

Il est curieux de constater la diversité des techniques utilisées dans les travaux expérimentaux effectués avec la même substance et sur le même animal. Il en résulte parfois de grandes difficultés dans l'interprétation de résultats d'une importance théorique pourtant fondamentale. Quelques travaux récents ont montré combien de légères modifications dans la technique du test et dans la manière de créer la sensibilisation chez le cobaye peuvent avoir d'influence sur la nature et l'appréciation quantitative du résultat. Il est dangereux de tirer des conclusions certaines du résultat d'expériences aussi fondamentales que celles concernant le transfert passif ou l'influence de divers facteurs sur la sensibilisation, si les conditions techniques de l'expérience n'ont pas été strictement déterminées, ce qui semble n'avoir pas toujours été le cas dans le passé. On pourrait dire, en d'autres termes, que nous possédons avec l'eczéma expérimental du cobaye un «instrument» très utile à l'étude de problèmes pathogéniques ou thérapeutiques, mais également un «instrument» dont le «mode d'emploi» et les limites d'utilisation méritent d'être exactement définis.

Notre but est donc, en analysant la littérature et en nous basant sur des expériences personnelles, de souligner certains faits concernant l'eczéma expérimental du cobaye, à propos de la technique et des limites de validité du test ainsi que des diverses manières de créer la sensibilisation, ceci d'autant plus qu'il nous fallait voir clair avant de pouvoir interpréter les résultats d'expériences personnelles concernant le transfert passif et le rôle protecteur éventuel de l'acanthose. (Ces travaux paraîtront ultérieurement.)

I. Méthodes de test

Le problème capital pour tout ce qui concerne les questions d'eczéma expérimental et de sensibilisation est le suivant:

1⁰ Comment affirmer avec certitude le fait que l'animal a été sensibilisé ?

2⁰ Peut-on apprécier objectivement le degré de sensibilisation ?

Pour déterminer si un animal est sensibilisé du fait d'un traitement antérieur au DNCB ou au PCL, nous disposons:

– du test épicutané: réaction déclenchée par l'application sur la peau de la substance en cause.

– du test intradermique: réaction à l'injection intradermique de la substance.

A. Le test épicutané *

Il faut remarquer que la plupart des substances chimiques simples qui sensibilisent le cobaye ont également, à partir d'une certaine concentration minimum, un effet toxique primaire. C'est notamment le cas pour le DNCB et le PCL.

La réaction causée par l'application de la substance, à concentration non toxique primaire, sur le flanc d'un cobaye sensibilisé est une «réaction cutanée tardive», une «réaction cutanée de contact», une «réaction spécifique de sensibilisation». Nous nous permettrons de la dénommer également «réaction eczémateuse».

1⁰ Aspect macroscopique de la réaction toxique primaire et de la réaction eczémateuse

Pour Rostenberg et Haeberlin ⁶², il n'existe pas de critères macroscopiques permettant de définir qu'une réaction survient en raison

* Pour juger avec sécurité du résultat d'un test épicutané, les conditions techniques dans lesquelles est effectué le test doivent être bien déterminées. Il faut noter qu'une irritation de la zone testée peut être due également à d'autres causes que la substance appliquée elle-même. Le grattage des animaux, l'irritation due au solvant (huile) ou à la technique d'épilation ont été signalés comme pouvant fausser l'interprétation du test (Chase ⁶). Nous avons nous-mêmes observé que certains dépilatoires chimiques et certaines huiles étaient susceptibles de causer de fortes irritations. Pour les tests épicutanés sur le flanc du cobaye, nous avons opéré selon la technique suivante: plusieurs heures avant l'application, le flanc est tondu à la tondeuse électrique puis rasé très délicatement au rasoir électrique (Unic). Nous n'avons pas utilisé de dépilatoire chimique. La solution est appliquée avec un porte-coton sur une surface de 3 cm² environ en s'efforçant d'obtenir une répartition aussi homogène que possible de la solution.

d'une sensibilité eczémateuse et non du fait d'une irritation primaire. *Nilzén*⁵⁷ est du même avis.

Nous avons également pu nous convaincre du fait qu'au point de vue macroscopique, la réaction toxique primaire au DNCB ou au PCL sur le flanc d'un cobaye non sensibilisé est difficile à différencier de la réaction eczémateuse, à concentration non toxique primaire, déclenchée sur le flanc d'un cobaye sensibilisé.

2^o Détermination de la concentration toxique primaire minimum

Le seul critère, au point de vue *macroscopique*, pour déterminer si une réaction épicutanée est réellement due à une sensibilisation est donc la concentration de la solution utilisée pour le test. La détermination de la concentration toxique primaire minimum est donc de première importance.

a) Dinitrochlorobenzène (DNCB)

Il existe d'importantes divergences d'opinion en ce qui concerne l'effet toxique primaire du DNCB pour la même concentration (cf. tableaux 1, 2 et 3).

TABEAU 1

Effet d'une application de solution acétonique de DNCB chez le cobaye non sensibilisé

Concentration	Auteur	Résultat
1% Ac.	<i>Rostenberg</i> ⁶³	réaction toxique primaire
	<i>Baldrige, Kligman</i> ²	«léger érythème passager»
	<i>Nilzén</i> ⁵⁷	60 animaux + / 60
	<i>Zeligman</i> ⁷⁸	8 animaux + (érythème) / 8
	Expériences personnelles	3 animaux (+), 5 animaux + / 8
0,2% Ac.	<i>Nilzén</i> ⁵⁷	10 animaux + / 60
	<i>Baldrige, Kligman</i> ²	pas de réaction
	<i>Frey</i> ²¹	réaction toxique primaire
0,1% Ac.	<i>Rostenberg</i> ⁶³	pas de réaction
	<i>Baldrige, Kligman</i> ²	pas de réaction
	<i>Nilzén</i> ⁵⁷	1 animal + / 60
	* <i>Frey</i> ²¹	réaction toxique exceptionnelle
	Expériences personnelles	0 animal + / 14

* Après la rédaction de ce travail a paru le travail de *Frey, J. R.*, et *P. Wenk* (*Dermatologica* 112, 265, 1956). Ces auteurs signalent l'apparition de réactions toxiques primaires à 0,1% Ac. de DNCB chez 12,5% des animaux (12 animaux + / 96).

TABLEAU 2

Effet d'une application de solution alcoolique de DNCB chez le cobaye non sensibilisé

Concentration	Auteur	Résultat
1% Alc.	<i>Schnitzer</i> ⁶⁵	Erythème, œdème
	<i>Chase</i> ⁶	réaction toxique primaire
	<i>Kalkoff</i> ⁴¹	réaction toxique primaire
	<i>Hüllstrung, Hack</i> ³⁵	réaction toxique primaire
	<i>Fischer</i> ¹⁷	réaction toxique primaire
	<i>Nilzén</i> ⁵⁷	60 animaux + / 60 (100% !)
	<i>Guy</i> ²⁷	1 animal (+) / 10
	<i>Haxthausen</i> ³¹	exceptionnellement érythème sans infiltration
	<i>Haxthausen</i> ³³	1 animal (+) / 11
	<i>Gentile, Holmgren</i> ²⁵	pas de réaction ou très faible réaction
0,5% Alc.	<i>Schnitzer</i> ⁶⁵	érythème, desquamation
	<i>Kalkoff</i> ⁴¹	réaction toxique primaire
0,25% Alc.	<i>Schnitzer</i> ⁶⁵ , <i>Storck</i> ⁷³	pas de réaction toxique primaire
	<i>Miescher</i> ⁵³ , <i>Kalkoff</i> ⁴¹	pas de réaction toxique primaire
	<i>Nilzén</i> ⁵⁷	58 animaux + / 60
	<i>Rockwell</i> ⁶¹	2 animaux + / 38
0,1% Alc.	<i>Nilzén</i> ⁵⁷	3 animaux + / 60
	<i>Rockwell</i> ⁶¹	0 animal + / 38

TABLEAU 3

Effet d'une application de solution huileuse (huile d'olive) de DNCB chez le cobaye non sensibilisé

Concentration	Auteur	Résultat
1% O.O.	<i>Landsteiner, Jacobs</i> ^{44, 45}	1 animal (+) / 8
	<i>Chase</i> ⁶	rarement légère irritation
	<i>Nilzén</i> ⁵⁷	4 animaux + / 60
	<i>Skog</i> ⁷¹	6 animaux (+) / 111
	<i>Rockwell</i> ⁶¹	2 animaux + / 38
	Expériences personnelles	1 animal (+) / 8
0,5% O.O.	<i>Nilzén</i> ⁵⁷	0 animal + / 60
0,1% O.O.	<i>Rockwell</i> ⁶¹	0 animal + / 38

Nous voyons que la détermination d'une concentration toxique primaire minimum est difficile, comme le montre le désaccord des différents auteurs en ce qui concerne l'effet irritant primaire de telle

ou telle concentration donnée. Les divergences constatées tiennent peut-être au fait qu'il s'est agi de cobayes traités dans différents laboratoires, bien que Nilzén⁵⁷ n'ait pas observé de différences quant à la réaction toxique primaire chez des cobayes à Cincinnati et à Stockholm. Il est par contre certain qu'il peut exister d'importantes différences d'un cobaye à l'autre dans le même laboratoire. Chase⁶ a montré que certains cobayes présentent des réactions d'irritation primaire à des concentrations de 1_3 à 1_2 fois inférieures à celles causant une irritation primaire minimale chez d'autres animaux. Nous avons également pu constater ces variations individuelles comme le montre le tableau 4.

TABLEAU 4

Effet d'une application de DNCB sur le flanc du cobaye non sensibilisé

N° du cobaye	Réaction après 24 heures*	
	1% Ac.	1% O. O.
1	(+)	—
2	+	—
3	+++	—
4	(+)	—
5	—	—
6	(-)	—
7	+++	(-)
8	-	—

* Pour l'explication des signes voir p. 14.

Les résultats recueillis dans la littérature et nos propres expériences démontrent que l'effet toxique primaire ne dépend pas seulement de la concentration de la solution appliquée mais également du solvant utilisé.

Des résultats obtenus par divers auteurs et par nous-mêmes nous pouvons tirer la conclusion suivante: les concentrations ne donnant pas ou presque jamais de réaction toxique primaire sont:

dans l'acétone	0,1 %
dans l'alcool	0,1 %
dans l'huile	0,5 %

b) Chlorure de picryle (PCL)

Les travaux avec le PCL relatés dans la littérature ont, à notre connaissance, toujours été effectués avec des solutions huileuses.

TABLEAU 5

Effet d'une application de solution huileuse (huile d'olive) de PCL chez le cobaye non sensibilisé

Concentration	Auteur	Résultat
2% O.O.	Chase ¹³	légère irritation
1,5% O.O.	Landsteiner, Chase ⁴⁸	1 animal (+) / 10
	Raffel, Forney ⁶⁰	0 animal + / 12
1% O.O.	Landsteiner, Chase ⁴⁹	0 animal + / 4
	Chase ¹³	0 animal + / 8

Nous avons effectué nous-mêmes des contrôles sur des cobayes non sensibilisés avec des solutions huileuses (O.O.) et acétoniques (Ac.) de PCL.

TABLEAU 6

Effet d'une application de PCL sur le cobaye non sensibilisé

Nombre de cobayes	1% PCL O.O.	1% PCL Ac.
10	1 animal (+) / 10	0 animal + / 10

Il ressort de la littérature et de nos expériences que les solutions de PCL ne donnant pas ou presque jamais de réaction primaire toxique sont:

dans l'huile	1%
dans l'acétone	1%

Nous notons une différence intéressante entre le DNCB et le PCL: le DNCB à 1% dans l'acétone cause une réaction toxique dans 100% des cas, le PCL à la même concentration et dans le même solvant ne détermine pas ou presque jamais de réaction toxique primaire.

3° Choix de la concentration et du solvant à utiliser pour le test chez le cobaye sensibilisé

Si l'on veut éviter tout risque de fausse interprétation d'une réaction déclenchée chez un animal sensibilisé, il va de soi qu'il faut choisir pour le test une concentration inférieure à la concentration toxique primaire minimum. Si, pour mettre en évidence une sensibilisation, on utilise des concentrations plus élevées, il faudra se rappeler que dans certains laboratoires ces concentrations ont déclenché des réactions toxiques primaires.

a) DNCB

L'étude des travaux effectués avec le DNCB montre que les con-

centrations utilisées pour le test par divers auteurs varient grandement, comme le montrent les quelques exemples du tableau 7.

TABLEAU 7

Concentrations utilisées pour le test chez le cobaye sensibilisé

Concentration	Huile d'olive (O.O.)	Alcool (Alc.)	Acétone (Ac.)
1%	<i>Landsteiner, Jacobs</i> ⁴⁴ <i>Chase</i> ⁶ <i>Nilzén</i> ⁵⁵⁻⁵⁹ <i>Seebohm</i> ⁶⁹ <i>Skog</i> ⁷¹ , <i>Rockwell</i> ⁶¹	<i>Haxthausen</i> ³¹⁻³³ <i>Seeberg</i> ⁶⁸ <i>Gentile</i> ²⁵	<i>Seeberg</i> ⁶⁸
0,25%		<i>Hullstrung</i> ³⁵ <i>Schnitzer</i> ⁶⁶ et autres	
0,1%	<i>Chase</i> ¹³ , <i>Nilzén</i> ⁵⁵⁻⁵⁹ <i>Rockwell</i> ⁶¹ et autres	<i>Rockwell</i> ⁶¹ et autres	<i>Frey</i> ²⁰⁻²¹ <i>Rostenberg</i> ⁶²⁻⁶³ et autres

Il faut mentionner ici un fait qui limite le choix de la concentration utilisée pour le test. En effet, si l'homme est susceptible de se sensibiliser par contact et de réagir ensuite à des concentrations jusqu'à 100 000 fois inférieures à la concentration toxique primaire minimum, ce qui est notamment le cas pour le DNCB (*Wedroff* et *Dolgoeff* ⁷⁶), le cobaye par contre, par les méthodes de sensibilisation généralement employées, ne se montre sensible au plus qu'à des concentrations inférieures à 10 ou 20 fois la concentration toxique minimum (*Sulzberger* et *Witten* ⁷⁴), ce que nous avons pu également confirmer. Il faut donc choisir comme concentration pour le test d'une part celle qui ne donne pas d'effet toxique primaire mais également d'autre part celle qui est suffisante pour déclencher une réaction chez un animal faiblement sensibilisé.

Comme nous l'avons vu pour la réaction toxique primaire, ce n'est pas seulement la concentration d'allergène mais également le solvant qui doit être pris en considération. Le tableau 8 montre que, comme pour la réaction toxique primaire, les solutions huileuses de DNCB sont moins actives que les solutions alcooliques ou acétoniques pour déclencher des réactions chez le cobaye sensibilisé.

Il paraît donc assuré que pour le DNCB les solutions huileuses, à égalité de concentration, sont moins actives que les solutions alcooliques et acétoniques.

TABLEAU 8

Réactions déclenchées par diverses solutions de DNCB chez des cobayes sensibilisés par application sur la peau de DNCB

	Test DNCB 0,1% Ac.	0,1% Alc.	0,1% O.O.	1% O.O.
<i>Nilzén</i>	100 animaux pos. / 120	112 pos. / 120	0 pos. / 120	120 pos. / 120
Expér. pers.	6 + + +, 8 + + 1 + / 15			6 +, 9 (+) / 15

b) PCL

Les tests pratiqués chez des cobayes sensibilisés au PCL ont, dans les travaux publiés, toujours été pratiqués avec des solutions huileuses. La concentration utilisée a varié de 1-2% (*Landsteiner et Jacobs* ⁴⁴, *Landsteiner et Chase* ^{46, 48, 49}, *Chase* ^{8, 9, 12, 13}, *Raffel et Forney* ⁶⁰). Nous-mêmes avons pratiqué des tests avec des solutions huileuses et acétoniques de PCL sur des cobayes sensibilisés par des méthodes différentes.

Un premier groupe de cobayes a été sensibilisé par une série d'applications sur la peau de PCL à 1% en solution huileuse. Pour ce premier groupe, il n'y a pas de différence nette entre les solutions huileuses et acétoniques, ce qui est en contradiction avec ce qui a été observé avec le DNCB.

Un deuxième groupe de cobayes a été sensibilisé par une injection intramusculaire de stromata picrylés d'érythrocytes de cobayes, mélangés avec de la paraffine liquide, du BCG et de la lanoline. L'injection a été suivie d'applications sur la peau de PCL en solution huileuse (cf. p. 28). Nous voyons que dans ce deuxième groupe, la solution huileuse de PCL a été nettement moins active que la solution acétonique, comme c'est le cas pour le DNCB.

TABLEAU 9

Réactions déclenchées par des solutions huileuses et acétoniques de PCL chez des cobayes sensibilisés

	Cobaye No.	0,1% O.O.	0,1% Ac.
Groupe I	394	(+)	—
	395	(+)	+
	396	(+)	+
	398	—	—
Groupe II	29	—	+
	31	—	+
	32	+	++
	34	—	+
	36	—	+
	38	+	++

On voit donc qu'il est impossible de prévoir a priori l'action d'une substance, à concentration déterminée, et dans tel ou tel solvant, sur des cobayes sensibilisés d'une manière ou d'une autre à cette substance.

4^o *Appréciation du degré de sensibilisation*

Il serait utile de pouvoir juger des réactions obtenues chez le cobaye sensibilisé non seulement au point de vue qualitatif (présence ou non d'une sensibilité eczémateuse), mais également au point de vue quantitatif (appréciation du degré de sensibilité). C'est pourquoi de nombreux auteurs se sont efforcés de développer une méthode permettant d'apprécier le degré de sensibilisation. Comme l'a souligné *Nilzén*, on peut se baser pour ce faire sur:

- l'intensité des réactions
- la concentration minimum d'allergène nécessaire pour déclencher la réaction
- le temps de latence entre l'application du test et l'apparition de la réaction

Il apparaît difficile de comparer macroscopiquement l'intensité de la réaction d'un animal à l'autre, à moins que ces intensités ne soient très différentes. Des observateurs même entraînés peuvent juger très différemment de l'intensité d'une même réaction (*Nilzén*³⁷), ce que nous avons nous-mêmes à maintes reprises également observé. Il est naturellement nécessaire d'établir, pour la lecture des réactions-test et la rédaction des protocoles d'expériences, une échelle définissant l'intensité de la réaction. Mais il faut souligner que dans les divers travaux concernant le DNCB et le PCL les échelles adoptées ne correspondent pas, ce qui rend les comparaisons difficiles.

On peut adopter soit une notation descriptive rendant exactement compte de l'aspect des réactions observées mais compliquant l'interprétation des résultats (*Landsteiner, Chase*⁴⁶), soit une échelle standard basée sur certains critères et plus ou moins simplifiée. L'échelle que nous avons adoptée, basée sur les critères communs utilisés par *Landsteiner et Chase*^{48, 49}, *Nilzén*⁵⁵, *Chase*¹³ et *Rockwell*⁶¹, est la suivante:

- pas de réaction
- (+) réaction douteuse: quelques taches érythémateuses disséminées sur la région testée
- + érythème homogène net
- ++ érythème homogène intense
- +++ érythème homogène intense et œdème
- ++++ érythème homogène intense, œdème, nécrose

A notre avis, l'intensité de la réaction macroscopique ne permet de tirer des conclusions que si les différences entre les réactions sont vraiment très importantes.

On s'est efforcé d'apprécier de manière plus exacte le degré de sensibilisation en déterminant par dilutions progressives la concentration minimum d'allergène nécessaire pour déclencher la réaction. On a tenu compte non seulement de la concentration utilisée et du solvant, mais également de la quantité exacte d'allergène appliquée et de la surface de la zone testée (*Wedroff et Dolgoff*⁷⁶, *Ginsberg*³⁷, *Ro-*

stenberg⁶³, Dunn¹⁴, Frey²¹, Nilzén⁵⁷). Le temps de latence entre l'application du test et l'apparition d'une réaction paraît être d'autant plus court que l'animal est fortement sensibilisé et que la concentration utilisée pour le test est plus forte (Chase¹³.) Ce fait a été largement utilisé par Nilzén, mais ce dernier a lui-même souligné que le temps de latence ne saurait être à lui seul un critère déterminant.

Nous avons eu l'impression dans nos expériences que, si l'on ne tient compte que de différences vraiment importantes et si l'on pratique les tests toujours selon la même technique, il n'est pas nécessaire de trop compliquer la méthode.

5⁰ Aspect histologique des réactions

Comme nous l'avons vu, on ne peut différencier macroscopiquement une réaction toxique primaire d'une réaction eczémateuse. Qu'en est-il histologiquement ?

L'examen histologique du flanc du cobaye est difficile du fait de la minceur de l'épiderme et de la présence de poils. L'opinion des divers auteurs est contradictoire en ce qui concerne la spécificité des lésions histologiques déclenchées par l'application du test sur le flanc d'un cobaye sensibilisé.

Si la plupart des auteurs s'accordent à constater une acanthose de l'épiderme et la présence dans le derme d'un infiltrat inflammatoire accompagné d'œdème, par contre la présence de spongioles et de vésicules dans l'épiderme avec exocytose lymphocytaire, telle qu'elle est si caractéristique dans l'eczéma de l'homme, est mise en doute par beaucoup. Ginsberg²⁶ ne constate pas de spongiole nette, de même que Frey²⁰ et Gentile et Holmgren²⁵. Pour Nilzén⁵⁶ et Zeligman⁷⁸, l'image histologique d'une réaction causée par une concentration primairement irritante de DNCB chez un cobaye non sensibilisé ne diffère pas de l'image d'une réaction eczémateuse chez le cobaye sensibilisé. Sulzberger et Witten⁷⁴ sont d'opinion que la présence de lésions caractéristiques d'eczéma ne peut être mise en évidence de manière régulière et indubitable.

Par contre, déjà Bloch et Steiner-Wourlisch⁴, puis Mayer⁵⁴ et Landsteiner et di Somma⁴⁷ ont constaté chez des cobayes sensibilisés la présence de lésions caractéristiques d'eczéma (vésicules intraépithéliales!).

Aspect histologique des réactions au DNCB

1⁰ Sur le flanc

Pour notre part, nous avons à maintes reprises constaté dans l'épiderme du flanc de cobayes sensibilisés au DNCB des lésions histologiques d'aspect nettement eczématoïde, sous forme de spongioles et de vésicules. Il faut dire toutefois que ces lésions typiques ne s'observent pas avec régularité et ne sont pas toujours très marquées. Dans certains cas, il peut être extrêmement difficile de dire

si l'on a affaire à une réaction spécifique eczématoïde chez un cobaye sensibilisé ou à une réaction toxique primaire chez un cobaye non sensibilisé, lorsqu'on ne tient compte que de l'aspect histologique sans s'occuper de la concentration qui a déclenché la réaction.

Chez les cobayes sensibilisés, l'application sur le flanc d'une solution acétonique de DNCB à 0,1% déclenche une réaction eczématoïde caractérisée histologiquement par la présence de spongieuses et de vésicules dans l'épiderme (fig. 1). Chez les cobayes non sensibilisés par contre, l'application de la même concentration à 0,1% dans le même solvant ne détermine pas de lésions histologiques alors que la solution à 1% dans l'acétone entraîne une réaction toxique primaire caractérisée histologiquement par l'apparition de bulles sous-épidermiques et une nécrose de l'épiderme.

2° Sur la tétine

L'aspect histologique des réactions déclenchées sur la tétine par l'application d'une solution acétonique de DNCB sur des cobayes sensibilisés est différent de l'aspect histologique obtenu chez les cobayes non sensibilisés. La différence dans l'image histologique n'est pas seulement quantitative mais également qualitative.

Chez les cobayes sensibilisés, l'application d'une solution acétonique de DNCB à 0,1% détermine des lésions épidermiques de spongieuse et vésiculation avec exocytose lymphocytaire caractéristique.

Chez les cobayes non sensibilisés par contre, l'application d'une solution à 0,1% n'entraîne qu'une poussée mitotique passagère, révélée par la colchicine, alors que l'application d'une solution à 1% cause la formation de bulles sous-épidermiques et une nécrose de l'épiderme (W. Jadassohn, Bujard, Brun⁸⁹). Nous renonçons à présenter ici des documents photographiques, ceux-ci ayant déjà été publiés dans le travail cité ci-dessus.

En ne tenant compte que de l'aspect histologique, il est donc possible, par l'examen microscopique de la tétine, de différencier nettement et objectivement un cobaye sensibilisé au DNCB d'un cobaye non sensibilisé.

B. Aspect histologique des réactions au PCL

1° Sur le flanc

L'aspect histologique des flancs traités avec du PCL correspond à celui des flancs traités au DNCB: l'interprétation des lésions est peut-être encore un peu plus difficile que pour le DNCB.

Nous avons sensibilisé deux groupes de cobayes selon des méthodes différentes: un premier groupe a été sensibilisé par applications répétées de solution huileuse de PCL à 1%; un deuxième groupe a été sensibilisé par injection d'une émulsion

comprenant des «stromata picrylés», du BCG, de la paraffine et de la lanoline, combinée avec des applications de solution huileuse de PCL (cf. p. 28).

Chez les cobayes sensibilisés selon l'une ou l'autre manière, l'application d'une solution huileuse ou acétonique de PCL à 1% détermine des lésions de spongiose et une forte infiltration inflammatoire avec œdème du derme. Les lésions sont toutefois souvent difficiles à interpréter et ne sont pas toujours caractéristiques, même chez les animaux fortement sensibilisés (fig. 2).

Chez les animaux non sensibilisés, l'application sur le flanc de solutions huileuses ou acétoniques de PCL à 1% ne détermine pas de lésions. Nous n'avons pas

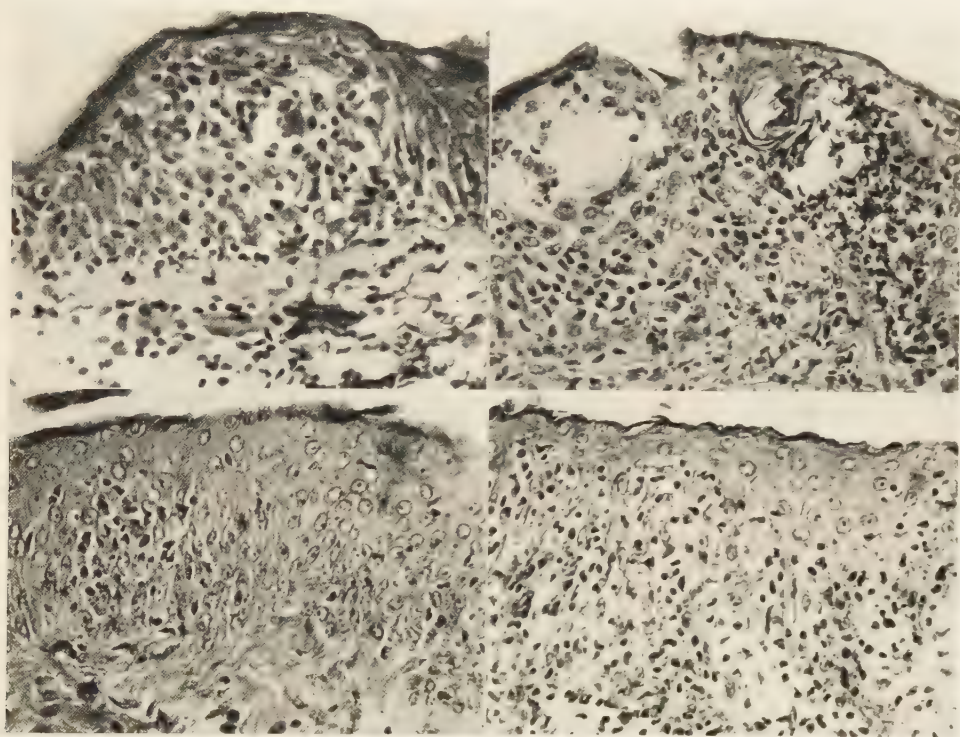


Fig. 1. Cobaye sensibilisé par applications de DNCB sur la peau. Réactions sur le flanc 24 h. après application de DNCB 0,1% dans l'acétone.

Fig. 2. Cobaye sensibilisé par injection de «stromata picrylés», BCG, paraffine et lanoline. Réaction sur le flanc 24 h. après application de PCL 1% dans l'huile d'olive.

Fig. 3. Cobaye sensibilisé par injection de «stromata picrylés», BCG, paraffine et lanoline. Réaction sur la tétine 12 h. après application de PCL 0,1% dans l'huile d'olive.

Fig. 4. Cobaye sensibilisé par injection de «stromata picrylés», BCG, paraffine et lanoline. Réaction sur la tétine 24 h. après application de PCL 0,1% dans l'huile d'olive.

recherché l'effet toxique primaire que doivent déterminer des concentrations plus élevées.

2° Sur la tétine

Comme pour le DNCB, les lésions histologiques sont beaucoup plus nettement eczématoïdes sur la tétine que sur le flanc.

Chez les cobayes sensibilisés par l'une ou l'autre méthode, l'application d'une solution huileuse ou acétonique de PCL à 1% ou à 0,1% détermine des lésions épidermiques (spongieuse et vésiculation) aussi caractéristique que celles rencontrées chez les cobayes sensibilisés au DNCB (fig. 3 et 4).

Chez les cobayes non sensibilisés par contre, l'application d'une solution huileuse ou acétonique de PCL à 1% ne détermine aucune lésion visible sans injection de colchicine. Nous n'avons pas étudié les lésions toxiques primaires dues à des concentrations plus élevées. *W. Jadassohn, Bujard, Brun et Paillard*³⁵ ont montré que l'injection de colchicine révèle chez les animaux non sensibilisés traités avec du PCL en solution acétonique à 1% une poussée mitotique passagère.

Nous avons ainsi pu démontrer que l'interprétation histologique des réactions eczémateuses est beaucoup plus facile sur la tétine que sur le flanc. Nous avons en outre montré que l'examen histologique de la tétine permet de différencier objectivement les cobayes sensibilisés au DNCB des cobayes non sensibilisés, sans tenir compte de la concentration. Pour le PCL, il en est de même, en tous cas pour les concentrations que nous avons examinées.

B. Le test intradermique

Nous n'insisterons pas sur la technique consistant à mettre en évidence une sensibilité eczémateuse par l'injection intradermique de l'allergène. Outre que l'on puisse faire théoriquement des objections à cette méthode, elle paraît techniquement peu sûre et les auteurs qui l'ont utilisée (*Landsteiner et Jacobs*³⁴) décrivent les réactions obtenues comme souvent difficiles à interpréter.

II. Méthodes de sensibilisation

A. Sensibilisation par application sur la peau

1° Résultats avec le DNCB

La sensibilisation a généralement été effectuée en ce qui concerne le DNCB par application sur la peau de solutions à concentrations principalement toxiques. La sensibilisation réussit soit par une application de solutions fortement irritantes (5% et plus) soit par plusieurs applications à concentration plus faiblement irritante (1% alcoolique ou acétonique). *Schnitzer*⁶⁶ et *Miescher*⁶⁸ ont démontré

que la réussite de la sensibilisation ne dépend pas de la quantité d'allergène appliquée mais de la concentration d'allergène par unité de surface. Le tableau 10 montre la technique et les résultats obtenus par divers auteurs.

TABLEAU 10

Sensibilisation au DNCB par application sur la peau de solutions primairement toxiques ou à la limite

Auteur	Solution	Nb d'appl.	Test	Résultat
Hullström ³⁵	5% Alc.		0,25% Alc.	100% +
Halter ²⁸	5% Alc.	5-8	0,25% Alc.	8 + / 8
Schreiber ⁶⁷	5% Alc.	4-7	0,25% Alc.	5 + / 5
Kalkoff ⁴¹	5% Alc.		0,25% Alc.	100% +
Schnitzer ⁶⁶	5% Alc.	3	0,25% Alc.	72 + / 75
Haxthausen ³¹	1% Alc.	1	1% Alc.	13 + / 14
Seebom ⁶⁹	2% Alc.	7	1% O.O.	100% +
Schnitzer ⁶⁶	1% Alc.	3	0,25% Alc.	10 + / 10
Kalkoff ⁴¹	0,25% Alc.		0,25% Alc.	4 + / 5
Schnitzer ⁶⁶	0,25% Alc.	3	0,25% Alc.	20 + / 20
Hösti ³⁴	0,25% Alc.	3	0,2% Alc.	sensibilisation +
Rostenberg ⁶³	30% Ac.	1	0,1% Ac.	5 + / 6
Gentile ²⁵	30% Ac.	2-3	1-0,5% Alc.	100% +
Nitzén ⁵⁷	30% Ac.	1	0,1% Alc.	112 + / 120
	(et 2% Alc.)		0,1% Ac.	100 + / 120
			0,5% O.O.	102 + / 120
Anke ¹	5% Ac.		0,25% Alc.	12 + / 12
Seeborg ⁶⁸	2% Ac.	1	1% Ac.	7 + / 9
	1% Ac.	1	1% Ac.	7 + / 10
Landsteiner				
Jacobs ⁴⁴	1% O.O.		1% O.O.	6 + / 6
Ginsberg ²⁶	1% O.O.		1-0,5% Et.	11 + / 11
Chase ⁶	1-2% O.O.	5-7	1% O.O.	230 + / 234
Rockwell ⁶¹	0,5% O.O.	1	1% O.O.	77 + / 88
			0,1% O.O.	11 + / 88
			0,25% Alc.	77 + / 88
			0,1% Alc.	1 + / 88

Y a-t-il des animaux réfractaires à la sensibilisation? D'après Chase⁶, suivant la souche héréditaire des animaux, il semble y avoir des cobayes extrêmement difficiles à sensibiliser, bien que l'on ne puisse apporter la preuve d'une résistance absolue. Pour notre part, sur des cobayes de provenance très diverses, nous avons observé les résultats suivants après 11 application quotidiennes sur le flanc de solution acétonique de DNCB à 1%:

Nombre de cobayes	Test + 0,1% Ac. (8 jours après la dernière application)	Test - à 0,1% Ac.
223	212	11

Nous signalons que les 11 animaux négatifs ont présenté des tests positifs à 0,1% Ac. après 5-6 applications supplémentaires de solution à 1%. Nous n'avons donc pas rencontré d'animaux réfractaires bien que ceux-ci n'aient pas été préalablement sélectionnés et que leur hérédité nous soit inconnue.

Est-il possible de sensibiliser des cobayes par applications sur la peau de solutions non primairement toxiques?

Frey²¹ affirme obtenir régulièrement la sensibilisation avec 4-10 applications de solution acétonique à 0,1%. Cette sensibilisation serait même d'un degré assez élevé puisqu'un nombre appréciable d'animaux réagissent à 0,01% dans l'acétone. La plupart des auteurs par contre (Schnitzer⁶⁶, Rockwell⁶¹, Hösli³⁴) n'obtiennent, avec des concentrations non irritantes, qu'irrégulièrement une sensibilisation de faible degré. Il est vrai que le nombre d'applications

TABLEAU 11

Sensibilisation par application de solutions considérées comme non toxiques primaires de DNCB

Auteur	Solu- tion	Nb d'appli- cations	Test	Résultat
Frey ²¹	0,1% Ac.	4-10	0,1-0,01% Ac.	54 +, 2 (+) / 56
Schepank ⁶⁴	0,1% Ac.	16-24	0,1% Ac.	0 + / 20
Exp. personnelles	0,1% Ac.	11	0,1% Ac.	0 + / 6
Schnitzer ⁶⁶	0,1% Alc.	3	0,25% Alc.	14 +, 14 (+) / 110
	0,05% Alc.	3	0,25% Alc.	0 + / 30
Hösli ³⁴	0,15% Alc.	3	0,2-0,15% Alc.	sensibilisation faible à douteuse
	< 0,15% Alc.	3	0,2-0,15% Alc.	pas de sensibil.
Rockwell ⁶¹	0,1% Alc.	1	1% O.O.	10 + / 19
			0,1% O.O.	1 + / 19
			0,25% Alc.	12 + / 19
			0,1% Alc.	1 + / 19
	0,05% Alc.	1	1% O.O.	9 + / 13
			0,1% O.O.	1 + / 13
			0,25% Alc.	10 + / 13
			0,1% Alc.	5 + / 13
Seeberg ⁶⁸	0,01% Alc.	1	1% Alc.	7 + / 10

pratiquées est inférieur à celui préconisé par *Frey*. *Schepank*⁶⁴ et nous-mêmes avons reproduit l'expérience de *Frey* et ne sommes pas parvenus à sensibiliser les animaux. *

Nous voyons que les opinions, quant à la possibilité des cobayes de se sensibiliser par applications sur la peau de concentrations non primairement toxiques, sont assez divergentes. Il ressort en outre du tableau qu'il existe des différences entre les animaux de différents laboratoires et entre les animaux d'un même laboratoire.

Jusqu'à quel degré un cobaye est-il susceptible de se sensibiliser par application sur la peau de DNCB? Si l'on examine d'après la littérature les concentrations minima auxquelles réagissent les cobayes sensibilisés par application sur la peau de DNCB, on obtient le tableau 12:

TABLEAU 12

Concentrations inférieures auxquelles réagissent les cobayes sensibilisés par applications de DNCB

Auteur	Test	Résultat
<i>Landsteiner, Jacobs</i> ⁴⁴	0,1% Alc.	«bien sensibilisé»
<i>Ginsberg</i> ²⁶	0,25-0,06% éth.	5 + / 11
<i>Frey</i> ²¹	0,025-0,01% Ac.	19 + / 56
<i>Nilzén</i> ⁵⁷	0,01% Alc.	5 + / 120
	0,05% Ac.	12 + / 120
	0,25% O.O.	70 + / 120
	0,1% O.O.	0 + / 120
<i>Rockwell</i> ⁶¹	0,1% O.O.	11 + / 88 et 1 + / 19
	0,1% Alc.	1 + / 88 et 1 + / 19

Ces résultats montrent que, dans un faible pourcentage de cas, des cobayes sensibilisés par application épicutanée de DNCB réagissent à des concentrations minima de 0,01 Alc., 0,01 Ac. et 0,1% O. O., soit au maximum 10 à 20 fois moins que la concentration toxique primaire minimum. Ce fait souligne, comme nous l'avons déjà dit, la différence entre le cobaye et l'homme qui lui peut réagir à des

* Après la rédaction de ce travail, nous sommes parvenus, au cours de nouvelles expériences pratiquées en hiver, à sensibiliser les animaux par 11 applications de DNCB à 0,1% Ac. (7 +, 2[+] / 9). Nos premières expériences négatives avaient été pratiquées en été. Cette différence peut être mise en rapport avec les constatations effectuées récemment par *Götz, H.* et *J. Schulz* (*Arch. Derm. Syph.* 203. 577, 1956) avec le DNCB et antérieurement par *Mayer, R. L.* et *M. B. Sulzberger* (*Arch. Derm. Syph.* 163, 245, 1931) avec l'Ursol et le Salvarsan.

concentrations jusqu'à 100.000 fois inférieures à la concentration toxique primaire minimum.

2° Résultats avec le PCL

D'après Landsteiner et Jacobs⁴⁴, Chase⁴⁶, l'application sur la peau de PCL à 1-2 % dans l'huile d'olive entraîne régulièrement la sensibilisation après 7-8 applications quotidiennes. Par contre Raffel et Forney⁶⁰ avec 31 à 38 applications de PCL à 1,5 % O.O. n'ont obtenu que 2 résultats faiblement positifs sur 8 cobayes.

Pour notre part, les résultats ont été les suivants:

TABLEAU 13

Sensibilisation par application sur la peau de PCL

Méthode de sensibilisation	Test après 24 heures avec:			
	1 % Ac.	0,1 % Ac.	1 % O.O.	0,1 % O.O.
11 applications de PCL à 1 % dans l'acétone	1 + / 6	0 + / 6		
11 applications de PCL à 1 % dans l'huile d'olive	4 + / 4	3 (+) / 4	4 + / 4	2 + / 4

Nous constatons qu'il est possible par application sur la peau de solutions huileuses de PCL à 1 % de sensibiliser le cobaye (ce qui confirme les expériences de Landsteiner, Jacobs et Chase). Par contre nous n'avons réussi que dans un cas sur 6 à créer une sensibilisation de faible degré par des applications répétées d'une solution acétonique de PCL à la même concentration. Il nous semble digne de remarque que le DNCB sensibilise régulièrement et intensément par applications de solutions acétoniques à 1 % alors que (bien que le nombre de cobayes que nous avons utilisés pour nos expériences soit restreint), le PCL à la même concentration et dans le même solvant ne sensibilise qu'exceptionnellement. Il apparaît une différence frappante entre le DNCB et le PCL quant à leur pouvoir sensibilisant par application sur la peau de solutions acétoniques.

B. Sensibilisation par injection d'allergène non modifié (solutions de DNCB ou de PCL)

1° Voie intradermique

Pour le DNCB, Landsteiner et Jacobs⁴⁴ ont montré que des injections répétées de 0,0025 mg en solution alcoolique avec du sérum

physiologique entraîne la sensibilisation aussi régulièrement que par application sur la peau. La possibilité de sensibiliser le cobaye au DNCB par injection intradermique a été vérifiée par de nombreux auteurs (*Chase*⁶, *Ginsberg*²⁶, *Rostenberg*⁶³, *Rockwell*⁶¹, *Schnitzer*⁶⁶, *Skog*⁷¹). Le degré de sensibilisation obtenu par voie intradermique semble être en tout cas aussi fort si ce n'est plus fort que par applications sur la peau. Les cobayes sensibilisés par injection intradermique réagissent régulièrement à des concentrations de 0,1 $\frac{0}{10}$ O.O. d'après *Skog*⁷¹ et même jusqu'à 0,04 $\frac{0}{10}$ O.O. d'après *Chase*⁶.

En ce qui concerne le PCL, la sensibilisation peut également être obtenue par des injections répétées ou plusieurs injections simultanées dans un grand nombre de cas (cf. tableau 14, I/1). *Raffel* et *Forney*⁶⁰ par contre n'ont obtenu qu'un animal sensibilisé sur 6 après 26 injections (cf. tableau 14, I/1). D'après *Landsteiner* et *Chase*^{43, 46}, par injection intradermique, les résultats de la sensibilisation au PCL sont analogues à ceux obtenus avec le DNCB.

2⁰ Voie sous-cutanée et intramusculaire

Pour le DNCB la sensibilisation est irrégulière et faible d'après *Landsteiner* et *Jacobs*⁴¹ (dose non précisée). *Seeberg*⁶⁸ ne trouve que 13 animaux positifs sur 29 (tests avec 1 % ac. après injection de 0,4 à 0,002 mg de DNCB). Par contre *Miescher*⁵³ et *Schnitzer*⁶⁶ ont obtenu régulièrement la sensibilisation par injection intramusculaire de 1 cc. à 0,1 % alc. (1 mg).

Pour le PCL, la sensibilisation est irrégulière et faible ou n'a pas été obtenue (cf. tableau 14, II/1).

3⁰ Voie intrapéritonéale

Pour le DNCB, les résultats de la sensibilisation par voie intrapéritonéale ne sont pas indiqués clairement dans la littérature. D'après *Landsteiner* et *Chase*⁴⁸, il semble qu'elle ne soit qu'exceptionnelle par cette voie.

Pour le PCL, l'injection intrapéritonéale (en évitant toute contamination de la peau) de PCL en solution alcoolique avec du sérum physiologique entraîne une sensibilisation de faible degré chez un certain nombre d'animaux pour certains et pas de sensibilisation pour d'autres (cf. tableau 14, III/1).

4⁰ Autres voies

Les autres voies d'injection possibles (intraveineuse, intracardiaque, etc.) n'ont eu généralement que très peu de succès (*Land-*

Matériel injecté	I. Voie intradermique
1. PCL seul + sérum physiol.	Sensibilisation régulière et forte ^{46, 44} (127 animaux + / 134 Sensibilisation rare (1 an. + / 6) ⁶⁰
2. PCL + adjuvants (paraffine, tapioca, alumine)	
3. PCL + BK morts + paraf- fine	Sensibilisation régulière et forte ¹³
4. Conjugué soluble (PCL-pro- téine) PCL-sérum, PCL-caséine	Pas de sensibilisation ⁴⁶ ou exceptionnelle ¹³
5. Conjugué soluble + paraf- fine + BK morts	
6. Conjugué insoluble (stro- mata picrylés)	Pas de sensibilisation ⁴⁹ ou sen- sibilisation sporadique ¹⁶
7. Stromata-PCL + adjuvants (paraffine, alumine)	Sensibilisation sporadique ¹³
8. Stromata-PCL + BK morts	
9. Stromata-PCL + paraffine + BK morts	Sensibilisation régulière mo- dérée ¹³
10. Stromata-PCL + paraf- fine + BK morts + émulga- teur (émuls. compl.)	Sensibilisation régulière mo- dérée (1 injection) ¹³
11. Emulsion complète + ap- plications PCL	

steiner et *Jacobs* ⁴⁴, *Landsteiner* et *Chase* ⁴⁸). La voie intraganglion-
naire utilisée par *Seeberg* ⁶⁸ a permis de sensibiliser un nombre im-
portant d'animaux (23 +/28) mais les tests ont été pratiqués avec
des solutions de DNCB 1 % ac.

sensibilisation au PCL

II. Voie sous-cutanée et intramusculaire	III. Voie intrapéritonéale
Sensibilisation irrégulière et faible ¹³ Pas de sensibilisation ⁶⁰	Sensibilisation irrégulière faible (16 an. + / 44) ^{48, 13} Pas de sensibilisation ⁶⁰
	Sensibilisation occasionnelle (4 an. + / 18) ^{48, 13} Pas de sensibilisation ⁶⁰
	Sensibilisation fréquente (80%) et intense ^{48, 13, 60} Sensibilisation rare et faible ¹³
	Sensibilisation irrégulière et faible ⁴⁹
	Sensibilisation irrégulière et faible ⁴⁹
Pas de sensibilisation ⁴⁹	Sensibilisation irrégulière et faible ⁴⁹
Sensibilisation $\pm$ fréquente selon teneur en BK ¹³	Sensibilisation régulière et forte ¹³
	Sensibilisation régulière et in- tense ^{49, 50, 13}
Sensibilisation régulière mo- dérée (1 injection) ¹³	
Sensibilisation régulière et ex- trêmement intense ^{9, 13}	

C. Méthodes complexes de sensibilisation

Landsteiner et *Chase* ont démontré la possibilité d'établir chez le cobaye une sensibilité eczémateuse par injection:

- d'antigènes complets (haptène (DNCB, PCL) — protéine: «conjugué»)
- d'allergène (DNCB, PCL) et d'adjuvants (paraffine, alumine, BK)
- d'antigènes complets («conjugué») et d'adjuvants.

Les résultats obtenus par ces différentes méthodes de sensibilisation, tels qu'ils peuvent être recueillis dans la littérature, sont présentés dans le tableau 14.

1° Sensibilisation par injection d'antigènes complets («conjugués»)

Des conjugués ont été préparés en faisant réagir du PCL avec du sérum de cobaye, de cheval, ou avec de la caséine. Il se forme un «conjugué soluble» ou «picryl-protein» (*Landsteiner-Chase* ⁴⁶). On peut également préparer un «conjugué insoluble» à partir d'érythrocytes de cobaye préalablement débarrassés de leur hémoglobine: «picryl guinea pig stromata» (*Landsteiner et Chase* ⁴⁹). La préparation des conjugués peut aussi être effectuée avec du dinitrofluorobenzène (DNFB), elle est par contre difficile avec le DNCB en raison de la moins grande réactivité de ce produit vis-à-vis des protéines *in vitro* (*Landsteiner et Jacobs* ⁴⁵). D'après ces auteurs, l'injection intradermique de conjugués solubles (PCL — protéines du sérum, caséine, etc.) ne détermine pour ainsi dire jamais de sensibilisation eczémateuse (cf. tableau 14, I 4). Par contre, l'injection intradermique de «stromata picrylés» (conjugué insoluble) entraîne sporadiquement une sensibilisation eczémateuse (cf. tableau 14, I 6). L'injection intrapéritonéale de conjugués solubles et insolubles n'entraîne elle aussi qu'une sensibilisation occasionnelle et faible (cf. tableau 14, III/4 et III/6).

Les résultats obtenus avec les «dinitrophenyl guinea pig stromata» (conjugués préparés à partir de dinitrofluorobenzène) sont comparables à ceux obtenus avec les stromata picrylés mais la sensibilisation obtenue est encore plus faible et plus sporadique.

2° Sensibilisation par injection d'allergène (DNCB, PCL) et adjuvants

Landsteiner et Chase ont tenté d'augmenter le degré de sensibilisation au PCL ou au DNCB ou même de la rendre possible dans certaines conditions en préparant l'animal par des injections de substances telles que l'huile de paraffine, le tapioca, l'alumine, le charbon ou par l'adjonction de BK morts.

Par voie intradermique, l'adjonction au PCL de paraffine ou de BK morts ne semble pas augmenter notablement le degré de sensi-

bilisation (cf. tableau 14, I/3). Par contre l'injection intradermique de BK morts préalablement aux applications cutanées de PCL paraît augmenter l'intensité des réactions (*Chase*¹³).

Par voie intrapéritonéale, l'injection de PCL avec de la paraffine ou du sérum physiologique ne détermine qu'une sensibilité occasionnelle et peu intense, chez 28 % des animaux (*Landsteiner* et *Chase*^{48,13}) ou chez aucun des animaux traités (*Raffel* et *Forney*⁶⁰) (cf. tableau 14, III/1, 2). Si l'on ajoute des BK morts, les cobayes seront fréquemment sensibilisés et le degré de sensibilisation obtenu peut être très élevé, les animaux réagissant à des concentrations de 0,02 % O.O. (cf. tableau 14, III/3).

3° Sensibilisation par injection de conjugués et d'adjuvants

Les résultats les plus nets ont été obtenus en combinant l'injection de conjugués (stromata picrylés) avec de la paraffine et des BK morts. Par voie intrapéritonéale, intradermique ou intramusculaire, il est ainsi possible de créer une sensibilité eczémateuse régulière et de degré élevé.

Le tableau 14 met en évidence :

- l'importance de l'adjonction des BK qui permet d'effectuer régulièrement la sensibilisation dans certains cas et d'augmenter notablement son degré (comparer I/6 et I/9, III/6 et III/8, 9, III/1 et III/3).

- le fait qu'en ajoutant un émulateur (Falba, Aquaphor) au matériel injecté (stromata picrylés + paraffine + BK morts), on réalise une «émulsion complète». Cette adjonction n'augmente guère le degré de sensibilisation mais elle permet de se contenter d'une seule injection et d'obtenir régulièrement une sensibilisation satisfaisante par voie intramusculaire, ce qui présente des avantages pratiques évidents (cf. tableau 14, I/10, II/10).

- la possibilité d'obtenir, par l'injection intramusculaire d'une «émulsion complète» de stromata picrylés, paraffine et BK morts, combinée avec des applications sur la peau de PCL dans l'huile à intervalles déterminés, des cobayes particulièrement sensibles au PCL. D'après *Chase*^{9, 13}, un nombre appréciable de cobayes sensibilisés selon cette méthode présentent des tests épicutanés positifs à des concentrations de 1/450 % O.O., soit près de 1000 fois moins que la concentration toxique primaire minimum. Ces cobayes («exquisite sensitive guinea pigs») sont donc sensibles à un degré qui n'a jamais été observé antérieurement (cf. tableau 14, II/11).

Le cobaye présentant un degré de sensibilité très élevé étant particulièrement intéressant, nous avons nous-mêmes tenté de reproduire l'expérience de *Chase*.

Technique

Les cobayes ont été sensibilisés par une injection dans la nuque d'une émulsion comprenant des stromata picrylés préparés selon la technique de *Landsteiner* et *Chase*⁴⁹, de l'huile de paraffine, du BCG et un émulgateur (adeps lanae). L'injection est suivie de 3 applications de PCL à 1% dans l'huile d'olive, effectuées les 21e, 28e et 35e jour. Les tests de contrôle sont pratiqués le 42e jour après l'injection. Les seules modifications apportées à la technique décrite en détail par *Chase*¹³ et *Freund*¹⁸ ont été le remplacement de l'émulgateur utilisé pour l'émulsion («Aquaphor», «Falba», que nous n'avons pu nous procurer) par de la lanoline anhydre (adeps lanae) et le remplacement des BK morts par du BCG mort ou vivant. Les doses de BCG injectées, conformément à la suggestion de *Metaxas*, ont été 5 fois plus élevées que les doses correspondantes de BK morts préconisées par *Chase*.

Nous avons sensibilisé 64 cobayes par la méthode de *Chase* en 3 séries dont chacune a reçu les quantités suivantes:

Série I (19 cobayes): 5 mg. BCG vivant, 10 mg. de stromata picrylés, 0,5 cc. de paraffine et 0,5 g. d'adeps lanae par cobaye.

Séries II et III (45 cobayes): 15 mg. BCG mort, 20 mg. de stromata picrylés, 0,5 cc. de paraffine et 0,5 g. d'adeps lanae par cobaye.

Les résultats sont indiqués dans le tableau 15.

TABLEAU 15
Sensibilisation au PCL par la méthode de Chase

Intensité de la réaction Série	Réaction après 24 heures (42 ^e jour après injection)								
	Test 1% O.O.			0,1% O.O.			0,01% O.O.		
	I	II	III	I	II	III	I	II	III
++++			14						
+++		17	6			10			1
++	12	3	4		12	7			3
+	4				7	3		4	5
(+)	3				1	4		5	5
—			1	19		1	19	11	11

Il a donc été possible par ce procédé d'obtenir régulièrement une sensibilisation, sensibilisation qui s'est avérée particulièrement intense pour les séries II et III. La sensibilisation atteinte par la série I n'a de loin pas été aussi intense. Pour la série I, les quantités de stromata picrylés ont été égales à celles préconisées par *Chase* alors que

les quantités de stromata et de BCG ont été plus élevées dans les séries II et III. Dans ces séries également, nous avons injecté du BCG mort au lieu de BCG vivant. Si l'on ne considère que les séries II et III, soit 45 animaux, nous constatons que 13 réagissent à une concentration de 0,01 % dans l'huile d'olive soit le 28 % environ. Ces résultats sont inférieurs à ceux de Chase¹³ qui a observé un pourcentage de 45 % d'animaux réagissant à 0,006 % O.O.

Cette technique de Chase permet donc d'obtenir des animaux beaucoup plus sensibles qu'ils ne le sont par les méthodes de sensibilisation habituelles. L'aspect des réactions est particulièrement frappant: un nombre important d'animaux présente à l'endroit testé des nécroses et l'intensité des réactions observées pour une concentration déterminée est beaucoup plus forte que celle que l'on a coutume de voir chez des cobayes sensibilisés par les techniques ordinaires.

Nous soulignons que la différence entre les réactions survenant chez des cobayes sensibilisés d'une manière spéciale et d'autres sensibilisés par application sur la peau par exemple n'est apparemment qu'une différence d'intensité. Dans les deux cas, le cours de la réaction et son déroulement dans le temps sont sensiblement les mêmes. La réaction débute plus tôt si l'animal est fortement sensibilisé et si la concentration utilisée pour le test est plus forte. D'autre part, l'aspect histologique des réactions déclenchées sur la tétine de cobayes sensibilisés par des conjugués selon la méthode de Chase est, comme nous l'avons vu, nettement eczématoïde (cf. p. 14).

III. La sensibilité de type anaphylactique des cobayes sensibilisés au DNCB ou au PCL

Nous avons parlé jusqu'à présent uniquement de la sensibilité eczémateuse au DNCB et au PCL. Mais Landsteiner et Chase^{46, 8} ont montré que les cobayes sensibilisés au DNCB ou au PCL d'une manière ou d'une autre peuvent présenter, à côté de la sensibilité eczémateuse démontrée par le test épicutané, une sensibilité de type anaphylactique. Il ne nous paraît pas souhaitable de parler de la sensibilisation eczémateuse au DNCB ou au PCL sans relater les phénomènes anaphylactiques que présentent les cobayes sensibilisés.

1° Démonstration de la sensibilité de type anaphylactique

Les phénomènes anaphylactiques et la présence d'anticorps dans

le sérum chez les animaux sensibilisés au DNCB ou au PCL peuvent être mis en évidence par diverses méthodes:

a) Production d'une réaction anaphylactique chez le cobaye sensibilisé, soit par l'injection intraveineuse de conjugué, soit par la méthode de Schultz-Dale (*Landsteiner et Chase*⁴⁶⁾.

b) Démonstration *in vitro* d'anticorps dans le sérum, au moyen d'une réaction de précipitation (*Landsteiner et Chase*⁴⁶⁾ ou de fixation du complément (*Raffel et Forney*⁶⁰⁾.

c) Démonstration d'anticorps passivement transférables par le sérum.

Cette démonstration peut être faite:

– en produisant une réaction anaphylactique chez le récepteur ayant reçu du sérum de cobaye sensibilisé.

Il est possible de déclencher une réaction anaphylactique chez le récepteur, soit par injection intraveineuse d'un conjugué, soit par la méthode de Schultz-Dale (*Landsteiner et Chase*^{46, 8)}.

– par le déclenchement d'une réaction immédiate chez les cobayes ayant reçu préalablement une injection intradermique de sérum de cobaye sensibilisé («Prausnitz-Küstner modifié» *Chase*⁸⁾.

Chez les animaux préparés par une injection intradermique de sérum de cobaye sensibilisé au DNCB ou au PCL, il est possible de déclencher une réaction immédiate. Cette réaction est caractérisée par un érythème fugace accompagné d'œdème, apparaissant quelques minutes à quelques heures après déclenchement de la réaction, ayant son maximum 10 à 20 minutes après le début de la réaction et ayant totalement disparu après 24 heures. La réaction à l'endroit préparé est déclenchée par injection à l'endroit préparé ou à un autre endroit («Fernausslösung», *W. Jadassohn*^{37, 40)} par voie sous-cutanée, intrapéritonéale ou intraveineuse, d'un conjugué protéinique de PCL ou de dinitrofluorobenzène.

Il est également possible de déclencher la réaction immédiate non plus par injection de conjugué mais par injection ou par application de l'allergène seul. Si les récepteurs ont été préparés avec du sérum d'animaux sensibilisés au PCL, la réaction peut également être déclenchée par injection ou par application de PCL mais elle apparaîtra seulement après 2 heures en cas d'injection ou après 7 heures en cas d'application de l'allergène sur l'endroit préparé. Il s'agit là des «evanescent-type of contact reaction» décrites par *Chase*. Si les récepteurs ont été préparés avec du sérum d'animaux sensibilisés au DNCB, la réaction immédiate ne peut être déclenchée que par l'injection d'un conjugué préparé *in vitro*.

Par contre si l'animal récepteur a été préparé avec un sérum contenant des anticorps vis-à-vis de substances très réactives (par ex. anhydride citraconique, chlorure de phthalyle), la réaction peut être déclenchée par injection ou application de l'allergène et apparaît après quelques minutes.

Il apparaît donc comme clairement démontré par *Landsteiner et Chase* que les animaux sensibilisés au DNCB ou au PCL présentent

des phénomènes anaphylactiques et des anticorps passivement transférables par le sérum.

2° Différences entre la sensibilité de type anaphylactique et la sensibilité eczémateuse chez les animaux sensibilisés au DNCB et au PCL

Landsteiner^{47, 51} avait déjà souligné un certain nombre de différences entre la sensibilité de type anaphylactique et la sensibilité eczémateuse:

- la sensibilité de type anaphylactique peut être passivement transférée par le sérum alors que la sensibilité eczémateuse semble ne pouvoir être transférée que par des cellules vivantes: cellules d'exsudat péritonéal, cellules de rate, de thymus, cellules ganglionnaires, leucocytes du sang (*Landsteiner et Chase*^{51, 7, 12, 11}, *Haxthausen*^{32, 33}, *Nilzén*⁵⁶, *Seebohm*⁶⁹, *Skog*⁷¹).

- l'injection intradermique ou intrapéritonéale d'un conjugué soluble (pieryl-protein) ne crée pour ainsi dire jamais de sensibilité eczémateuse alors qu'elle entraîne régulièrement une sensibilité anaphylactique (*Landsteiner et Chase*^{42, 46}).

- Il n'y a pas de parallélisme entre le degré de la sensibilisation eczémateuse et celui de la sensibilisation anaphylactique (*Landsteiner et Chase*^{42, 46, 13}, *Raffel et Forney*⁶⁰).

- le procédé de désensibilisation anaphylactique par injections répétées de conjugué est sans effet sur la sensibilité eczémateuse (*Landsteiner et Chase*⁴⁶, *Raffel et Forney*⁶⁰).

- la mise en évidence et les réactions dues à la sensibilité de type anaphylactique sont tout à fait différentes de la réaction cutanée tardive déclenchée par test épicutané et due à la sensibilité eczémateuse.

IV. Comparaison entre le PCL et le DNCB

1° Comparaison au point de vue chimique

*Landsteiner et Jacobs*⁴⁵ se sont intéressés au comportement du PCL et du DNCB vis-à-vis des protéines.

D'après eux, le PCL réagit très rapidement avec les protéines en milieu alcalin et lentement avec les protéines du sérum au pH du sérum. Le DNCB par contre réagit beaucoup plus lentement en milieu alcalin et pas du tout avec les protéines du sérum si l'on n'ajoute pas d'alcali. Le DNCB et le PCL réagissent tous deux avec l'aniline, ce qui d'après *Landsteiner* est caractéristique pour les dérivés nitrés du benzène à action sensibilisante. Le PCL est beaucoup plus rapidement décomposé que le DNCB par le méthylate de sodium. La décomposition par le méthylate de

sodium semble aller de pair pour ces substances avec leur réactivité à l'égard des protéines, comme le montre le fait que le dinitrofluorobenzène, réagissant avec les protéines du sérum mieux que le DNCB et moins bien que le PCL, a également une vitesse de décomposition par le méthylate de sodium intermédiaire entre celles du DNCB et du PCL. De plus, la préparation de conjugués protéiques *in vitro* est facile avec le PCL et le dinitrofluorobenzène, difficile par contre avec le DNCB.

Il paraît établi que *in vitro* le PCL se montre plus actif que le DNCB vis-à-vis des protéines.

2° Comparaison au point de vue de la sensibilité anaphylactique

Il ressort des expériences de Landsteiner et Chase que le PCL et le DNCB se comportent de manière quantitativement différente pour ce qui est de créer une sensibilité anaphylactique chez le cobaye.

Par applications sur la peau de PCL, il est possible d'obtenir, à côté de la sensibilité eczémateuse, une sensibilité de type anaphylactique généralement modérée (Landsteiner et Chase ⁴⁶). Les applications de DNCB permettent également d'obtenir une sensibilité anaphylactique mais bien plus irrégulièrement et à un degré beaucoup plus faible (Chase ⁹). Par injection intradermique, le PCL crée régulièrement une sensibilité anaphylactique intense, si le nombre d'injections est suffisant (Landsteiner et Chase ⁴⁶). Le DNCB par contre, par injection intradermique, ne crée qu'irrégulièrement une sensibilité anaphylactique de faible intensité.

Dès que la sensibilisation est effectuée non plus avec du PCL mais avec un conjugué préparé *in vitro*, il survient toujours une sensibilité anaphylactique alors que la sensibilité eczémateuse ne s'établit que dans certains cas (cf tableau 14, 4-11). Là aussi comme l'ont souligné à maintes reprises Landsteiner et Chase, les conjugués préparés à partir de dinitrofluorobenzène (de préférence au DNCB encore moins réactif *in vitro*) sont beaucoup moins efficaces que ceux préparés avec du PCL.

La même différence d'activité entre le DNCB et le PCL a été constatée pour ce qui est de mettre en évidence une sensibilité anaphylactique chez le cobaye.

Nous avons vu que, dans l'expérience de Prausnitz-Küstner modifiée, la réaction peut être déclenchée par l'injection ou l'application de PCL mais ne peut être obtenue avec le DNCB.

Tous les faits expérimentaux permettent d'affirmer que, tant pour ce qui est de créer la sensibilité anaphylactique que pour déclencher des phénomènes anaphylactiques chez le cobaye sensibilisé, le PCL est plus actif que le DNCB.

3° Comparaison au point de vue de la sensibilité eczémateuse

Nous avons voulu comparer le DNCB et le PCL quant à leur effet toxique primaire.

W. Jadassohn, Bujard, Brun et Paillard ⁵⁸ ont étudié sur la tétine

de cobayes non sensibilisés l'action d'un certain nombre de dérivés nitrés du benzène en solution acétonique. Ils ont pu montrer un parallélisme net entre l'effet toxique primaire de certaines substances (qu'il s'agisse d'une nécrose de l'épiderme ou d'une augmentation du nombre des mitoses) et leur pouvoir sensibilisant.

Les substances sensibilisantes (dinitrochlorobenzène, dinitrofluorobenzène, dinitrobromobenzène) déterminaient une nécrose à la concentration de 1% et une forte augmentation de l'activité mitotique à 0,1% alors que les substances non sensibilisantes ne causaient à la concentration de 1% qu'une faible augmentation du nombre des mitoses. Le PCL, substance sensibilisante, s'était comporté de manière différente, ne déterminant pas de nécrose à la concentration de 1% mais par contre une augmentation de l'activité mitotique nettement plus forte que celle déterminée par les substances non sensibilisantes.

L'examen histologique de la tétine montrait donc qu'en ce qui concerne l'effet toxique primaire le PCL en solution acétonique est moins actif que le DNCB. Nous avons pu nous-mêmes confirmer ce fait par l'examen macroscopique et histologique du flanc.

Nous avons vu que chez le cobaye non sensibilisé, l'application d'une solution acétonique de DNCB à 1% entraîne une réaction toxique primaire visible macroscopiquement chez 100% des animaux traités et caractérisée histologiquement par une nécrose de l'épiderme. Par contre le PCL en solution acétonique à 1% ne détermine aucune lésion tant macroscopique qu'histologique (cf. p. 11).

Nous avons comparé également le DNCB et le PCL quant à leur *action sensibilisante*.

Landsteiner et Chase ⁴⁶ ne disent pas avoir constaté de différences entre le DNCB et le PCL pour ce qui est de la création d'une sensibilité eczémateuse. D'après eux, par injection intradermique, les résultats obtenus avec ces deux substances sont comparables.

Nous avons pu montrer par nos expériences actuelles, qu'en solution acétonique et par application sur la peau à la concentration de 1%, le DNCB sensibilise régulièrement et intensément alors que le PCL ne sensibilise qu'exceptionnellement (cf. p. 22).

Il paraît donc assuré que tant pour ce qui est de l'effet toxique primaire que du pouvoir sensibilisant, le PCL en solution acétonique est moins actif que le DNCB.

Landsteiner ¹² a émis l'hypothèse (déjà suggérée auparavant par Wolff-Eisner ⁷⁷) que la sensibilité cutanée de contact était due à une réaction entre l'allergène et les protéines du corps, déterminant la formation d'un conjugué ou antigène complet et la production d'anticorps spécifiques. Cette hypothèse était basée sur le fait que les subs-

tances chimiques simples capables de créer une sensibilité eczéma-teuse étaient également celles susceptibles de former des conjugués (*Landsteiner et Jacobs* ⁴⁵). Divers faits expérimentaux sont venus appuyer cette hypothèse (cf. *Landsteiner et Chase* ^{48, 49, 11}, *Eisen et Belman* ^{15, 16}, *Gell et coll.* ^{22, 23, 24}).

Si, comme le veut l'hypothèse de *Landsteiner*, la sensibilité eczéma-teuse est, comme la sensibilité anaphylactique, due à la formation in vivo d'un antigène complet, d'un conjugué protéinique, il faut s'attendre à ce que les substances ayant la plus grande réactivité vis-à-vis des protéines soient également celles dont le pouvoir sensibilisant est le plus fort. Nous avons vu que, d'après *Landsteiner et Chase*, le PCL est plus actif que le DNCB tant in vitro que in vivo pour créer une sensibilité anaphylactique. On s'attendrait normalement à ce que le PCL soit également plus actif que le DNCB pour ce qui est de créer une sensibilité eczémateuse. Or nous avons constaté que, par application sur la peau et en solution acétonique, *le pouvoir sensibilisant du PCL est nettement moins fort que celui du DNCB*. Nous pensons que cette divergence doit être soulignée mais nous nous garderons d'en tirer des conclusions pour le moment.

D'autre part, *W. Jadassohn et coll.* ³⁹ avaient démontré un parallélisme entre l'effet toxique primaire et le pouvoir sensibilisant d'un certain nombre de dérivés nitrés du benzène, parmi lesquels le PCL et le DNCB. Le PCL s'était comporté toutefois de manière différente: bien que connu à l'époque comme une substance fortement sensibilisante, il n'avait déterminé que des effets toxiques primaires légers, intermédiaires entre les effets toxiques primaires importants causés par les substances sensibilisantes et les effets toxiques presque nuls déterminés par les substances non sensibilisantes. Nous avons pu démontrer maintenant que par application sur la peau et en solution acétonique, le PCL a un effet toxique primaire et une action sensibilisante inférieurs à ceux du DNCB.

Nous pouvons donc dire que pour ces deux substances, en solution acétonique, il y a un *parallélisme net entre l'effet toxique primaire et le pouvoir sensibilisant*.

Conclusions et résumé

Nous avons voulu souligner certains faits concernant l'eczéma expérimental du cobaye au dinitrochlorobenzène (DNCB) et au chlorure de picryle (PCL).

De l'examen de la littérature et de nos expériences, il ressort que:

1^o La réaction toxique primaire ne peut que difficilement être distinguée macroscopiquement de la réaction eczémateuse. L'apparition d'une réaction toxique primaire dépend non seulement de la concentration mais également du solvant. Il existe d'importantes variations individuelles entre les animaux de différents laboratoires et entre les animaux d'un même laboratoire.

2^o Le degré de sensibilisation peut être apprécié d'après l'intensité des réactions et d'après la concentration minimum d'allergène nécessaire pour déclencher la réaction, mais il ne faut tenir compte que de différences vraiment importantes.

3^o L'examen histologique de la tétine permet de distinguer objectivement un animal sensibilisé d'un animal non sensibilisé. L'aspect histologique des réactions sur les tétines des animaux sensibilisés au DNCB ou au PCL est nettement eczématoïde. Par contre, l'aspect histologique des réactions sur le flanc est souvent d'interprétation difficile.

4^o La régularité avec laquelle on obtient la sensibilisation et le degré de sensibilité atteint varient grandement suivant la méthode de sensibilisation utilisée. Par une méthode complexe de sensibilisation de Chase, il a été possible d'obtenir des animaux dont le degré de sensibilité au PCL est particulièrement élevé.

5^o Les cobayes sensibilisés au DNCB ou au PCL peuvent présenter, suivant la méthode de sensibilisation utilisée, une sensibilité anaphylactique qui doit être distinguée de la sensibilité eczémateuse.

6^o Le PCL est plus actif que le DNCB vis-à-vis des protéines in vitro et au point de vue de la sensibilité anaphylactique. Au point de vue de la sensibilité eczémateuse par contre, le DNCB a, par application sur la peau, en solution acétonique, un pouvoir sensibilisant et un effet toxique primaire plus forts que le PCL.

7^o Pour le DNCB et le PCL, en solution acétonique, il est confirmé qu'il y a un parallélisme entre l'effet toxique primaire et le pouvoir sensibilisant par application sur la peau.

Zusammenfassung

Auf Grund des Studiums der Literatur und eigener Versuche kommt der Autor zu folgenden Schlußfolgerungen:

1. Die primär toxische Reaktion ist makroskopisch schwer von der ekzematösen Reaktion zu unterscheiden. Ob eine primär toxische

Reaktion auftritt, hängt nicht nur von der Konzentration der Lösung ab, sondern auch vom Lösungsmittel. Es bestehen erhebliche individuelle Differenzen zwischen den Tieren verschiedener Laboratorien und auch zwischen den Tieren ein und desselben Laboratoriums.

2. Die Stärke der Sensibilisierung kann nach der Intensität der Reaktionen beurteilt werden, ferner aber auch auf Grund der minimalen Allergenkonzentration, die nötig ist, um eine Reaktion auszulösen. Es dürfen aber nur wirklich erhebliche Differenzen berücksichtigt werden.

3. Die histologische Untersuchung der Meerschweinchenzitzen gestattet es, sensibilisierte Tiere von nicht-sensibilisierten zu unterscheiden, indem die Zitzen mit Dimethylpikrobenzol (DNCB) und mit Picrylchlorid (PCL) sensibilisierter Tiere nach Applikation dieser Substanzen deutlich ekzematoide Reaktionen aufweisen. An der Haut der Flanke des Meerschweinchens sind die Reaktionen oft schwer zu beurteilen.

4. Die Regelmäßigkeit, mit der eine Sensibilisierung erreicht wird, und die Stärke der erzielten Sensibilisierung hängen von der verwendeten Sensibilisierungsmethode ab. Durch eine «komplexen» Sensibilisierungsmethode von Chase gelingt es, auf PCL besonders hochgradig sensibilisierte Tiere zu erhalten.

5. Mit DNCB oder PCL sensibilisierte Meerschweinchen können je nach der angewandten Sensibilisierungsmethode eine anaphylaktische Sensibilisierung aufweisen, die von der ekzematösen Sensibilisierung zu unterscheiden ist.

6. Bezüglich der Reaktionsfähigkeit *in vitro* gegenüber Proteinen und bezüglich der anaphylaktischen Überempfindlichkeit ist PCL aktiver als DNCB. Was aber die ekzematöse Überempfindlichkeit und die primär toxische Reaktion anbetrifft, ist bei Applikation auf die Haut DNCB in Azeton gelöst wirksamer als PCL.

7. Für DNCB und PCL in Azeton gelöst bestätigt sich, daß ein Parallelismus besteht zwischen dem eine primär toxische Reaktion auslösenden Effekt und der Sensibilisierungswirkung bei Applikation auf die Haut.

Summary

On the basis of a review of the literature and the author's own experiments the following conclusions have been drawn:

(1) The primary toxic reaction is difficult to distinguish macro-

scopically from the eczematous reaction. The appearance of a primary toxic reaction depends not only on the concentration of the solution but also on the solvent. There exist important individual variations between animals from different laboratories and also between animals from the same laboratory.

(2) The degree of sensitization can be evaluated from the intensity of the reactions and from the minimum concentration of allergen necessary to initiate the reaction; only significant differences should be taken into consideration.

(3) The histological examination of the nipple allows the distinction between sensitized and non-sensitized animals. The histological aspect of the nipples of animals sensitized to Dinitrochlorobenzene (DNCB) or to Picrylchloride (PCL) is clearly eczematoid. On the other hand, the histological reactions on the flank are often difficult to interpret.

(4) The regularity as well as the degree of sensitization vary greatly according to the method of sensitization used. By one of Chase's complex methods of sensitization it has been possible to obtain animals with a particularly high degree of sensitization to PCL.

(5) According to the method of sensitization used, guinea pigs sensitized to DNCB or to PCL may show an anaphylactic sensitivity which must be distinguished from the eczematous one.

(6) PCL is more active than DNCB towards proteins *in vitro* and the same is true as regards the anaphylactic sensitivity. On the other hand, when considering the eczematous sensitivity, DNCB in acetonetic solution has, when applied on the skin, a greater sensitizing power and primary toxic effect than PCL.

(7) Concerning DNCB and PCL in an acetonetic solution, it is confirmed that there exists a parallelism between the sensitizing power by application to the skin and the primary toxic effect.

Bibliography

- ¹ Anke, H.: *Derm. Wschr.* 109, 1263, 1939. — ² Baldrige, G. D., and A. M. Kligman: *J. invest. Derm.* 17, 257, 1951. — ³ Bloch, B., und Steiner-Wourlich: *Arch. Derm. Syph., Berlin* 152, 283, 1926; ⁴ 162, 349, 1930. — ⁵ Burckhardt, W.: *Acta derm.-vener., Stockh.* 19, 359, 1938. — ⁶ Chase, M. W.: *J. exp. Med.* 73, 711, 1941. — ⁷ *Id.*: *J. Bact.* 51, 643, 1949. — ⁸ *Id.*: *J. exp. Med.* 86, 489, 1947. — ⁹ *Id.*: *Fed. Proc.* 9, 379, 1950; ¹⁰ 10, 404, 1951. — ¹¹ *Id.*: *Amer. J. Med.* 13, 357, 1952. — ¹² *Id.*: The nature and significance of antibody response, p. 156. Pappenheimer, New York, N.Y., 1953. — ¹³ *Id.*: *Int. Arch. Allergy* 5, 163, 1954. — ¹⁴ Dunn, J.,

